

BEST AVAILABLE COPY

PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : A61K 31/23		A1	(11) International Publication Number: WO 98/19675 (43) International Publication Date: 14 May 1998 (14.05.98)
<p>(21) International Application Number: PCT/US97/20098</p> <p>(22) International Filing Date: 4 November 1997 (04.11.97)</p> <p>(30) Priority Data: 60/030,394 5 November 1996 (05.11.96) US</p> <p>(71) Applicant: WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION [US/US]; 614 North Walnut Street, P.O. Box 7365, Madison, WI 53707-7365 (US).</p> <p>(72) Inventors: COOK, Mark, E.; 15 Kewaunee Court, Madison, WI 53705 (US). KIM, Sohee; Samik Apt., 7 dong, 511, 313, Dongdaesin 2 Ga, Suh-gu, Pusan (KR). PARIZA, Michael, W.; 7102 Valhalla Trail, Madison, WI 53719 (US). DeVONEY, Danielle; 69 Ponwood Circle, Madison, WI 53717-1179 (US).</p> <p>(74) Agent: BERSON, Bennett, J.; Quarles & Brady, P.O. Box 2113, Madison, WI 53701-2113 (US).</p>		<p>(81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Published <i>With international search report.</i> <i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i></p>	
<p>(54) Title: USE OF CONJUGATED LINOLEIC ACID TO ENHANCE NATURAL KILLER LYMPHOCYTE FUNCTION</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A method of enhancing the activity of natural killer lymphocytes and a method for increasing the basal level of natural killer activity in an animal include the step of administering orally or parenterally to said animal a safe amount of CLA, said amount being effective to enhance the activity of killer lymphocytes or to enhance the basal activity of killer lymphocytes in the animal.</p>			

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2001-503430

(P2001-503430A)

(43)公表日 平成13年3月13日(2001.3.13)

(51)Int.Cl.⁷

A 61 K 31/231

A 23 K 1/16

A 61 K 31/201

A 61 P 43/00

識別記号

3 0 1

1 0 7

F I

A 61 K 31/231

A 23 K 1/16

A 61 K 31/201

A 61 P 43/00

テマコード(参考)

3 0 1 H

1 0 7

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 18 頁)

(21)出願番号

特願平10-521719

(86) (22)出願日

平成9年11月4日(1997.11.4)

(85)翻訳文提出日

平成11年4月30日(1999.4.30)

(86)国際出願番号

PCT/US97/20098

(87)国際公開番号

WO98/19675

(87)国際公開日

平成10年5月14日(1998.5.14)

(31)優先権主張番号

60/030,394

(32)優先日

平成8年11月5日(1996.11.5)

(33)優先権主張国

米国(US)

(71)出願人 ウィスコンシン アラムナイ リサーチ
フォンデーション
アメリカ合衆国 53707-7365 ウィスコ
ンシン マデイソン ピー. オー. ボック
ス 7365 ノース ウォルナット ストリ
ート 614(72)発明者 クツク, マーク イー.
アメリカ合衆国 53705 ウィスコンシン
マデイソン ケワウニー コート 15

(74)代理人 弁理士 川崎 隆夫 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ナチュラルキラーリンバ球の機能を高める動物の治療方法

(57)【要約】

ナチュラルキラーリンバ球の活性を高める方法および動物のナチュラルキラー活性の基礎レベルを高める方法であって、動物のキラーリンバ球活性を高めるまたは、キラーリンバ球の基礎活性を高めるのに有効な量であってかつ安全な量のCLAを前記動物に経口的にまたは非経口的に投与する段階を含む。

【特許請求の範囲】

1. 動物のキラーリンパ球の活性を維持または高める方法であつて、前記動物にキラーリンパ球の活性を高めるのに有効な量であつて安全量のCLAを経口または非経口投与することを含んでなる方法。
2. 前記CLAが食物に含まれて動物に経口投与される請求項1記載の方法。
3. 前記CLAがCLAの無毒性塩、CLAの活性エステル、またはそれらの混合物として投与される請求項1記載の方法。
4. 動物のキラーリンパ球の基礎活性を高める方法であつて、動物のキラーリンパ球の基礎活性を高めるのに有効な量であつて安全量のCLAを前記動物に経口または非経口投与することを含んでなる方法。
5. 前記CLAが食物に含まれて動物に経口投与される請求項4記載の方法。
6. 前記CLAがCLAの無毒性塩、CLAの活性エステル、またはそれらの混合物として投与される請求項4記載の方法。
7. 免疫性攻撃後の過剰活性キラー細胞応答を阻止する方法であつて、動物のキラーリンパ球の基礎活性を高めるのに有効な量であつて安全量のCLAを前記動物に経口または非経口投与することを含んでなる方法。
8. 前記CLAが食物に含まれて動物に経口投与される請求項7記載の方法。
9. 前記CLAがCLAの無毒性塩、CLAの活性エステル、またはそれらの混合物として投与される請求項7記載の方法。
10. 動物のキラーリンパ球の抗腫瘍細胞活性を維持または高める方法であつて、キラーリンパ球の活性を高めるのに有効な量であつて安全量のCLAを前記動物に経口または非経口投与することを含んでなる方法。
11. 前記CLAが食物に含まれて動物に経口投与される請求項10記載の方法。
12. 前記CLAがCLAの無毒性塩、CLAの活性エステルまたはそれらの混合物として投与される請求項10記載の方法。

【発明の詳細な説明】

ナチュラルキラーリンパ球の機能を高める動物の治療方法

関連出願の相互参照

本出願は、1996年11月5日に出願された仮特許出願番号60/030,394号の35U.S.C. § 119(e)に基づく利益を請求する。

連邦により援助された研究開発に関する陳述

該当せず。

発明の背景

本出願は一般にヒトを含む動物の治療方法に関する。より詳細に述べるならば、本出願は動物を治療してナチュラルキラーリンパ球の活性を高める方法に関する。

ヒトを含む動物のナチュラルキラーリンパ球が後天性異種形質を有する細胞類、例えば腫瘍細胞またはウィルス感染細胞などを無能力にしまたは破壊し得ることは公知である。キラーリンパ球活性を高めることは、腫瘍細胞およびウィルス感染細胞の形成を阻止し、動物の突然変異細胞または病原体感染細胞に対するその動物の免疫防御を高めるのに有効であろう。

動物のナチュラルキラーリンパ球の活性を高める方法があると好都合であることは明らかである。

発明の簡単な概要

本発明の目的は、動物のナチュラルキラーリンパ球の活性を高める方法を開示することである。

本発明のもう一つの目的は、動物のナチュラルキラー活性の基礎レベルを高める方法を開示することである。

我々は、ヒトを含む動物におけるキラーリンパ球の活性を高める方法を発見した。その方法は安全かつ有効量の共役リノール酸、例えば9,11-オクタデカジエン酸および10,12-オクタデカジエン酸、またはそれらの活性誘導体、例えば無毒性塩、トリグリセリド等の活性エステル、およびこれらの混合物を動物に投与することを含んでなる。

共役リノール酸類、それらの無毒性塩、活性エステル、活性異性体、活性代謝
産物、およびそれらの混合物は本明細書では“C L A”と言及する。

前記の目的およびその他の利点は本発明の実施によって達せられることは当業者には明らかであろう。

図面のいくつかの簡単な説明

図 1 は、 C L A または L A を投与した動物の脾臓から収集した脾臓リンパ球の平均数を報告したものであり、 N K 活性を高めるために付加的にポリ－ I C で刺激した場合と、刺激しなかった場合のそれらが示されている。

図 2 は、 C L A または L A を投与した動物から収集した脾臓あたりの N K 細胞の平均数を報告したものであり、 N K 活性を高めるために付加的にポリ－ I C で刺激した場合と刺激しなかった場合とが

示されている。

図 3 は、 C L A または L A を投与した動物から収集した脾臓リンパ球における N K 細胞のパーセントを報告したものであり、 N K 活性を高めるために付加的にポリ－ I C で刺激した場合と刺激しなかった場合とが示されている。

図 4 は、 C L A または L A を投与した動物から収集した脾臓リンパ球の N K 活性を報告したものであり、 N K 活性を高めるために付加的にポリ－ I C で刺激した場合と刺激しなかった場合とが示される。

図 5 は、 C L A または L A を投与した動物間の、ポリ－ I C による刺激後の N K 活性の增加倍率の差を示す。

発明の詳細な説明

動物のキラーリンパ球の活性を高めるための本発明の好ましい方法においては、安全かつ有効量の C L A を動物に投与する。

C L A は天然食物成分であり、比較的無毒性であるから、投与し得る C L A 量は、十分に有効である限り厳密ではない。

本発明の方法にはいくつかの実施態様がある。実施態様の 1 つにおいては、安全かつ有効な投与量の C L A を含む薬学的または獣医学的組成物として C L A を動物に投与する。別の実施態様においては、動物に C L A 強化食を給餌する。

本発明の方法に使用するための動物飼料および薬学的調合剤は、C L Aと従来の動物飼料(例えば家禽用餌)、ヒト用補助食品、または承認された薬学的希釈剤とを組み合わせて含むものである。

C L Aの活性型としては、遊離共役リノール酸類、それらの酸の

活性異性体、それらの無毒性塩、例えばトリグリセリド、メチルおよびエチルエステル等のこれらの酸の活性エステル、およびその他のそれらの活性化学的誘導体、およびこれらの混合物を含む。

遊離の共役リノール酸(C L A)は以前、油あげた食肉から単離されており、ハ(Y.L.Ha)、グリム(N.K.Grimm)およびパリザ(M.W.Pariza)によってCar sinogenesis 8巻、12号、1881-1887ページ(1987)においてこれは制癌物質として記載されている。それ以来、それらは幾つかのプロセスチーズ製品中に見いだされている(ハ、グリム、およびパリザ、J.Agric.Food Chem. 37巻、1号、75-81ページ(1987))。

C L Aの遊離酸型はリノール酸を異性化することによって調製することができる。遊離C L A酸の無毒性塩は遊離酸を無毒性塩基と反応させることによって作成することができる。天然C L Aはリノール酸から、例えばルーメンバクテリアであるブチリビブリオ フィブリソルベンス(Butyrivibrio fibrisolvens)等の無害な微生物から得られるW¹¹-シス、W¹¹-トランスイソメラーゼの作用によって調製することもできる。ラットおよび他の単胃動物の腸管内の無害な微生物もリノール酸をC L Aに変換することができる(チン(S.F.Chin)、リウ(W.Liu)、アルブライト(K.Albright)およびパリザ(M.W.Pariza)、1992、FASE B J. 6:アブストラクト#2665)。

上記の調製方法の実践によって得られたC L Aは、9, 11-オクタデカジエン酸および/または10, 12-オクタデカジエン酸およびそれらの活性異性体を1種類以上含む。それは遊離であっても、エステル結合によって化学的に結合していてもよい。C L Aは

熱安定性であり、そのままで使用しても、乾燥して粉末にして使用してもよい。

この遊離酸は、遊離酸の化学的等量を約8~9のPHで水酸化アルカリと反応させることによって、無毒性塩、例えばナトリウム、カリウムまたはカルシウム塩などに容易に変換される。

理論的には、9, 11-および10, 12-オクタデカジエン酸の幾何学異性体として可能な8種類の異性体 (c 9, c 11; c 9, t 11; t 9, c 11; t 9, t 11; c 10, c 12; c 10, t 12; t 10, c 12 および t 10, t 12) が c 9, c 12-オクタデカジエン酸の異性化により生成するであろう。異性化の結果として期待されるのは4種類の異性体のみであろう (c 9, c 11; c 9, t 11; t 10, c 12 および c 10, c 12)。しかし、4種類の異性体のうち、c 9, t 11-およびt 10, c 12-異性体が、c 9, c 12-リノール酸の自動酸化またはアルカリ異性化中に優先的に、共役二重結合周囲の5個の炭素原子の共平面特性および共鳴ラジカルの空間的衝突によって生成する。残る2種類のc, c-異性体は比較的重要でない寄与物 (minor contributors) である。

9, 11-または10, 12-オクタデカジエン酸のt, t異性体の分布が比較的高いのは、明らかに、延長された処理時間または長いエージング期間の間に熱力学的に好ましいc 9, t 11-またはt 10, c 12-幾何学異性体がさらに安定化されるためである。その上、リノール酸幾何学異性体 (t 9, t 12-、c 9, t 12-およびt 9, c 12-オクタデカジエン酸) の異性化中に優先的に形成される9, 11-または10, 12-オクタデカジエン酸のt, t-異性体はそれら異性体の最終比またはサンプル中の最終

的CLA含量に影響を与える。

リノール酸の幾何学的異性体は比較的重要でない寄与物 (9, 11-および10, 12-, t 9, c 11-およびc 11, t 12-オクタデカジエン酸のc, c-異性体) の分布にも影響する。11, 13-異性体がマイナー生成物として、c 9, c 12-オクタデカジエン酸またはその異性体型から、処理中に生成されうる。

CLAは動物の食物への添加に加えて、薬学的または獣医学的組成物、例えば

錠剤、カプセル、溶液または懸濁液の形で、動物またはヒトに投与できる。投与すべき正確な量は、当然のことながら、使用する C L A の形態および投与経路、動物またはヒトの状態の性質に依存する。一般に、薬剤として用いられる C L A の量は 1 日あたり C L A 約 100 m g m ~ 約 20,000 m g (遊離酸として計算) の範囲である。しかし、C L A は比較的無毒性であるため用いられる量の上限は臨界的ではない。添加物として食品に添加する C L A の量は(遊離酸として計算)その食品の重量の 0.01 % から 2 % 以上までの範囲でよい。

本発明の実際の方法を、行われた下記の実験によってさらに詳しく説明する。

第一の実験の目的は、C L A が、腫瘍細胞の破壊をなう免疫細胞(ナチュラルキラー細胞)活性を高めることによって、癌増殖を阻止するかどうかを確認することであった。

第一の実験において、24匹のマウスにゼロまたは 0.5 % C L A を 4 週間食させた。それらのマウスを殺す前に、各食餌処置のマウスの半数に、1 m g / k g 体重のエンドトキシンまたは磷酸緩衝溶液(P B S)を注射した。これらマウスから脾臓を収集し、リンパ

球を分離した。これらのリンパ球を腫瘍細胞系と共に培養し、脾臓中のナチュラルキラー細胞の細胞毒活性を評価した。P B S またはエンドトキシンを注射した C L A 投与マウスでは、ナチュラルキラーリンパ球活性の有意な増加があった。その上、正常マウスから分離し、C L A と共に培養したリンパ球も腫瘍細胞系に対して高められたキラー活性を示した。

表1
ナチュラルキラー細胞の細胞傷害性

マウス 4週間給餌
標的 5×10^4
エフェクター 標的 $\times 60,20$
3日培養

標的 X 60			
	対照 (PBS)	対照 (LPS)	CLA (PBS)
	19	32.1	24
	27.2	55.2	50.8
	30	45.7	48.1
	31.5	51.3	37.3
	19.3	54.5	32.9
	20.6	44	30.6
平均	24.6	47.13333	37.28333
SD	5.147491	7.901195	9.487082
SE	2.101455	3.22565	3.873085
標的 X 20			
	対照 (PBS)	対照 (LPS)	CLA (PBS)
	10.3	22	25
	11.4	25	15.2
	18.4	21.1	16.8
	16.5	17.1	16
	11.1	22.6	17.7
	17.8	25.5	26.5
平均	14.25	22.21667	19.53333
SD	3.379719	2.773335	4.481691
SE	1.379764	1.132209	1.829643
脾臓重量 / 体重			
	対照 (PBS)	対照 (LPS)	CLA (PBS)
	0.003	0.0054	0.0035
	0.0017	0.0049	0.0038
	0.0025	0.0071	0.0039
	0.0025	0.0038	0.0044
	0.0028	0.0045	0.0036
	0.0024	0.0048	0.0029
	0.0034	0.0042	0.0029
	0.0025	0.0073	0.003
平均	0.0026	0.00525	0.0035
SD	0.000164	0.000428	0.000179
SE	0.000464	0.001211	0.000505

第二の実験は、CLAを含む食餌を食べさせた動物ではNK細胞活性が増加するという第一の実験の観察を確認した。同時に、第二の実験は(1)細胞あたりの基礎NK活性はLA給餌動物に比しCLA給餌動物の方が高い、(2)LA給餌動物に比し、CLA給餌動物の方が脾臓がより大きく脾細胞数がより多い、(3)

脾臓リンパ球におけるNK細胞の割合がCLAを使い尽くした後も維持されることが証明した。

齢3週間の乳離れしたC57BL/6雄マウスを1ケージに4匹、標準条件下で入れた。それらマウスに、0.5%リノール酸(LA)か、0.5%共役リノール酸(CLA)かどちらかを補充した粉末食を28日間与えた。動物を殺す36時間前に、各食餌処置を受けている動物の半数に100マイクロリットルの希ポリイノシン酸-ポリシチジル酸(ポリ-IC)-インビボ(*in vivo*)でナチュラルキラー(NK)細胞を刺激することが知られている作用物質一腹腔内注射した。脾臓リンパ球は脾臓ホモジネートから勾配遠心分離によって分離した。脾リンパ球を数え、3連続希釈液を調製した。脾臓サンプルは混合しなかった。

脾臓あたりの収集されたリンパ球細胞の平均数(図1)はLA給餌マウスよりもCLA給餌マウスの方が著しく高かった。脾臓あたりのリンパ球細胞の数は、そのマウスがNK活性を高めるための刺激を受けたかどうかにはほとんど無関係であるように見えた。

脾臓あたりのNK細胞の平均数(図2)もLA給餌マウスよりもCLA給餌マウスの方が著しく高かった。ここでも脾臓あたりの分離されたNK細胞数は、マウスがNK活性増加のための刺激を受けたかどうかにはほとんど無関係であるように見えた。

脾臓リンパ球におけるNK細胞のパーセント(図3)はかなり一定で、ポリ-ICによる刺激、または食餌中のCLAまたはLAの存在による影響を受けないように見えた。

分離した脾臓細胞のNK活性を標準的NK検定によって、標的としてYAC-1リンパ腫細胞系を用いて、各動物で3回づつ評価した。YAC-1細胞(アメリカンタイプカルチャーコレクション、ロックヴィル、MDから商業的に入手可能である(受託番号TIB-160))を96-ウェルプレートに脾臓リンパ球と3エフェクター:標的(E:T)細胞比で5~35の範囲で4時間共に培養した。4時間のアッセイ後に生き残っている細胞を定量するために、テトラゾリウム染料MTTを加え、さらに4時間のインキュベーション後に、ホルムアミドーベ

ース - 停止溶液を加えた。プレートを一晩インキュベートして発色させた。562ナノメーターにおける吸光度を各ウェルで測定した。各プレートで関連プランクおよび対照を試験した。

吸光度データから、回帰曲線を作り、NK活性とE:T比とを関連づけた。各食餌／注射群でE:T比11.0における平均期待NK活性を求め、標準偏差および標準誤差を計算した。

図4は各ウェルにおける同数の細胞を反映するように標準化したNK活性データを示す。図4の左側は、ポリーアルギニンペプチド（PAP）で刺激しなかった動物の結果を示し、右側はPAP刺激動物の結果を報告する。0.5%CLA補充食を給餌した非刺激動物（図4、左）は、匹敵量のLAを給餌した動物に比較して脾臓リンパ球のNK活性の増加を示した。

PAP刺激マウス（図4、右）ではLAを給餌した動物の方

がCLA給餌マウスから得た脾臓リンパ球に比しより高レベルのNK活性を有するようみえる。しかし、NK活性の基礎レベル（PBS注射マウス）をPAP刺激マウスの刺激された活性に対して比較した場合、各食餌で、LA給餌マウスはNK活性の1.87倍を示すが、CLA給餌マウスは1.30倍の増加を示す（図5）。

その後の分析を行わなかったならば、これらのデータは、LAがCLAより大きい効果をもつという誤った考えに導いたかも知れない。しかし、より適切な分析としては、CLA給餌マウスはLA給餌マウスより高い基礎NK活性レベルを有し、刺激マウスでは高いNK活性レベルを獲得しても全体的活性増加はより低くなることがわかる。特に興味深いのは、CLA給餌マウスにおけるより高い基礎NK活性レベルである、なぜならばそれは免疫系の過剰刺激なしにNK細胞の監視機能を維持するからである。

この基礎活性レベルの増加は、細胞あたりの増加した活性の効力によって起きるのみならず、CLAの摂取が脾臓の大きさ及びそれが含む細胞の数の両方を増加させるというここで行われた観察からも生ずる。こうして、CLAを給餌した動物は、CLAを給餌されず、ナチュラルキラー細胞活性の基礎レベルがより低

い動物よりも、免疫性の攻撃を処理するのによりよく備えられている。

本発明のこの見地における第三の重要な要素は、C L A を食べさせた動物或いはC L A を食べさせなかった動物において、比例的一定レベルのN K 細胞が見いだされることである。N K 細胞が維持されるであろうことは予想されていなかつた。なぜならば種々の処置が免疫系細胞のサブポピュレーションに影響し得ることが知られているからである。例えば、これらの細胞にとって容認し得る程度の

高い活性をもつことは受け入れがたいであろうし、またこれらの細胞にとって免疫学的に無関係である程少数存在することも受け入れがたいであろう。これは、C L A を使い尽くした後、動物の免疫系を過剰刺激（過活性）状態に置くことなく免疫的監視が十分にできる程度に高いN K サブポピュレーションの細胞数を動物が維持することが明らかであるという点で重要な治療上の結果(分岐点)となる。対照給餌マウスは免疫性の攻撃（エンドまたはポリーアルギニン）を受けたとき、C L A 給餌マウスに比べてはるかに大きい増殖的反応を示すことから、C L A 非給餌マウスでは過剰免疫の相対的要求がその他の生理的機能に対して不都合な効果を与えるらしい。C L A 給餌動物は本体より多数のN K 細胞を有する。そのためこれらの動物は免疫防御のための十分な細胞数に達するために過活性免疫過程をへる必要がない。その上、ここではN K 細胞そのものが細胞ベースで高いN K 活性を有することが示されている。

以上をまとめると、出願人は、動物においてナチュラルキラー細胞活性の基礎レベルを高める方法であって、N K 活性の基礎レベルをC L A を給餌しない動物で認められるレベルより高いレベルにまで高めるのに有効な量であって、安全な量のC L A を動物に投与する段階を含んでなる方法をここに示した。

多数の変法または変更が本発明の精神および範囲から逸脱することなく行われることは当業者には容易に理解されるであろう。

[図 1]

總脾臟リンパ球

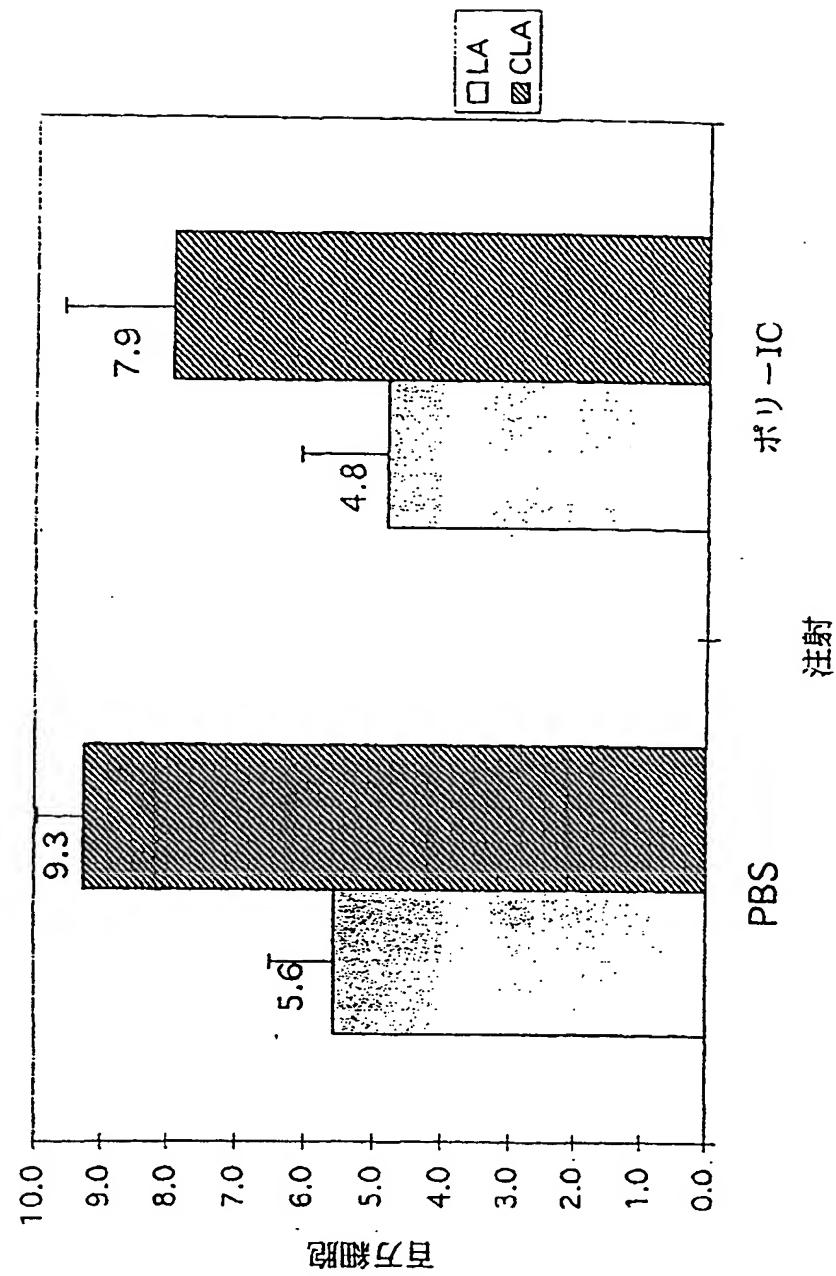


FIG 1

注入

PBS

ポリ-IC

【図 2】

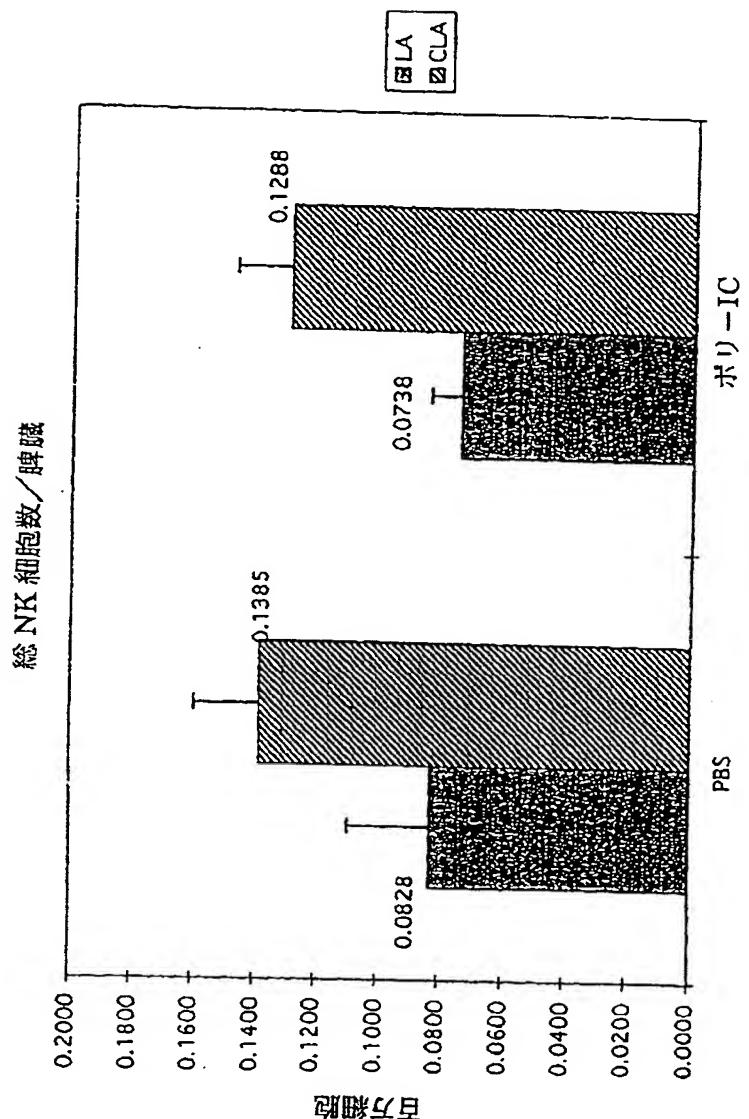


FIG 2

[図 3]

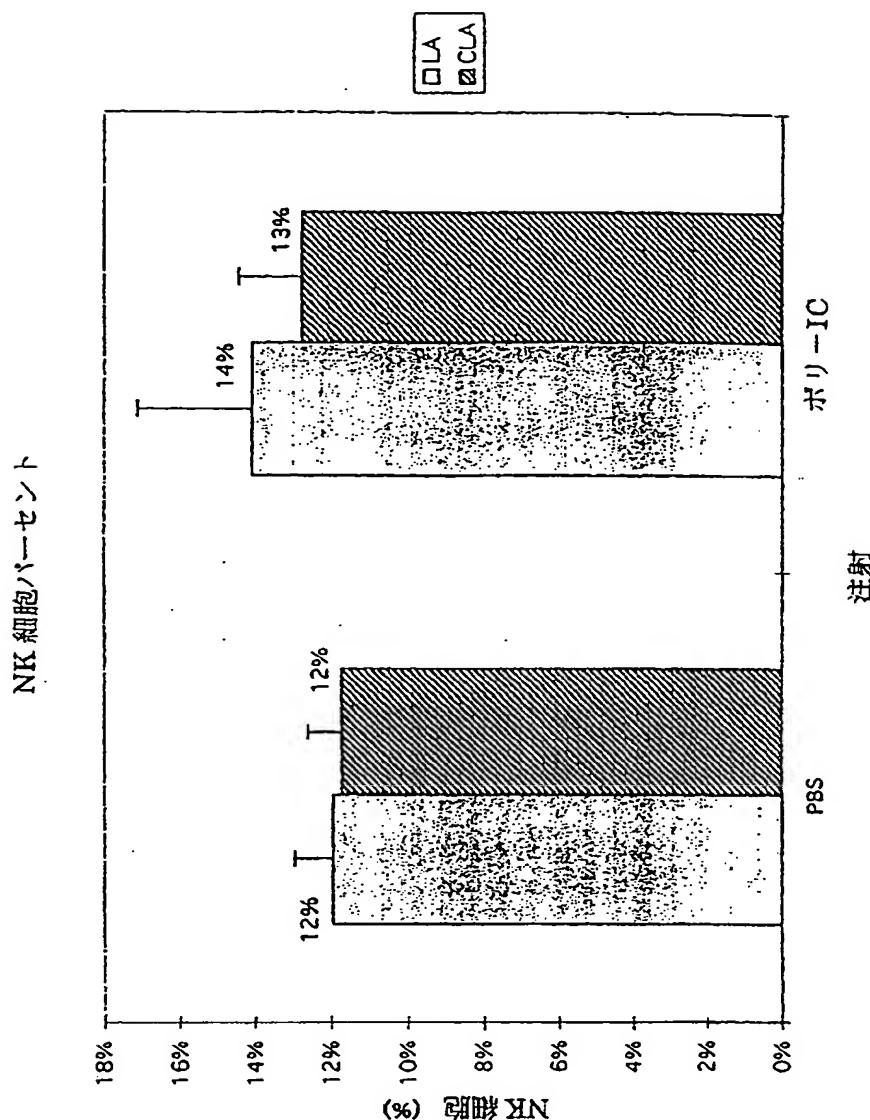
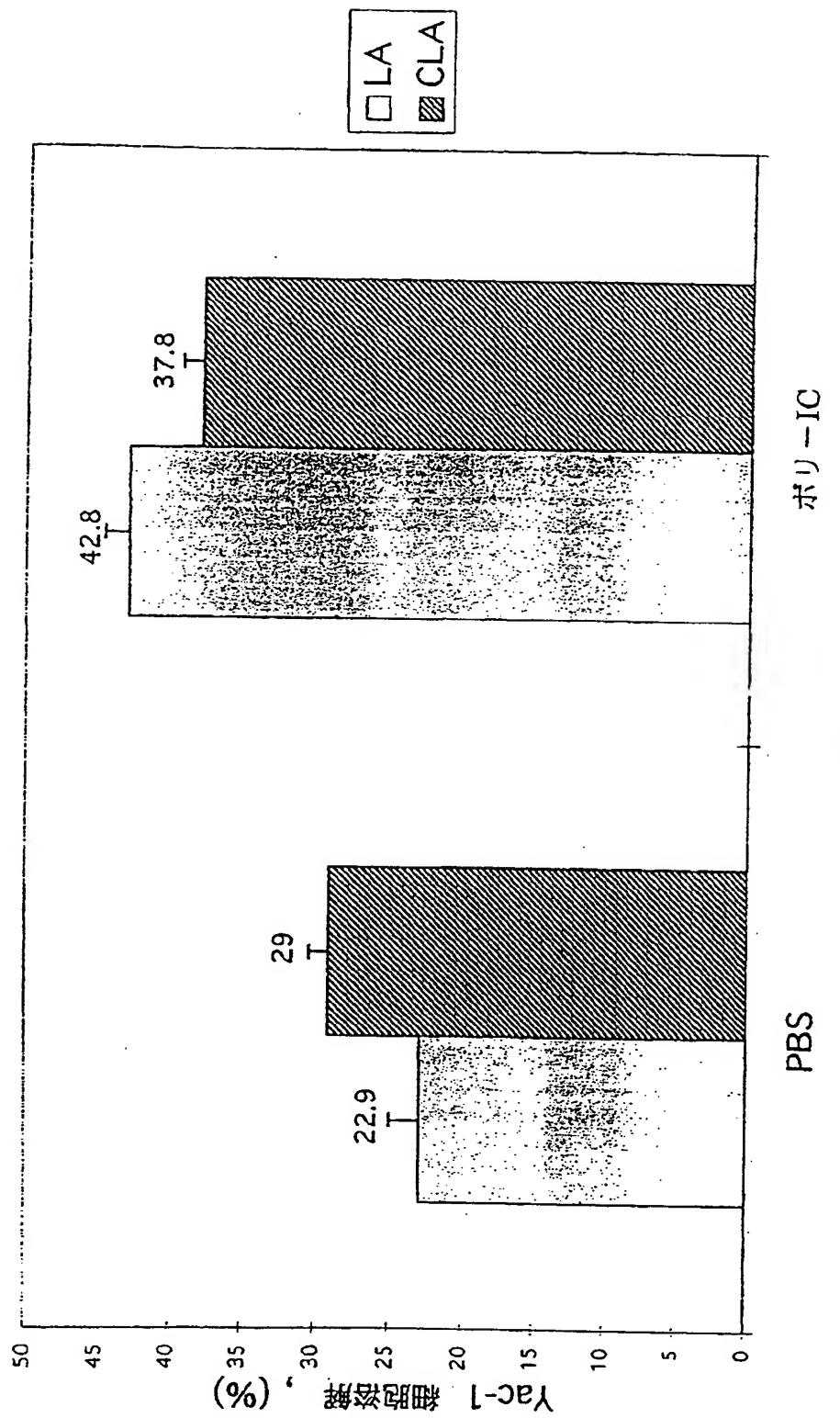


FIG 3

[図 4]

ナチュラルキラー細胞活性



注射

PBS

ポリ-IC

FIG 4

〔図 5〕

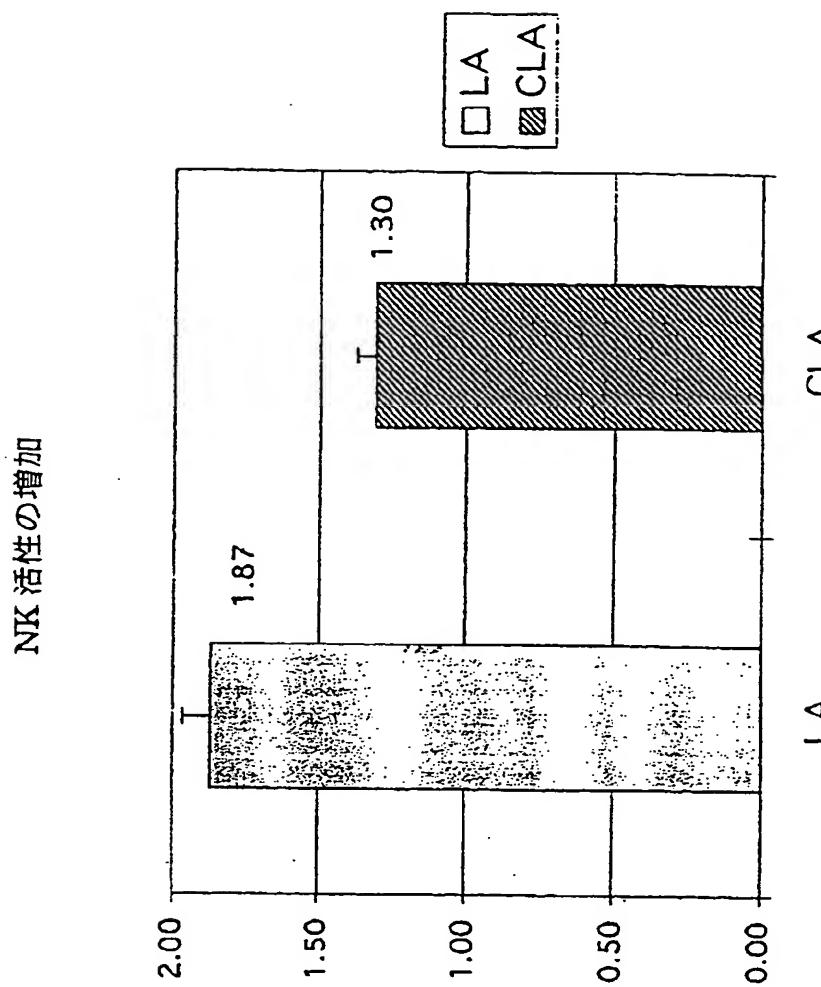


FIG 5

[国際調査報告]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 97/20098

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K31/23		
According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	M.W WONG ET AL.: "Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice." ANTIcancer RES., vol. 17, no. 2A, 1997, pages 987-993, XP002056186 see the whole document	1,2,4,5, 7,8,10, 11
A	M. PARIZA ET AL.: "Chemoprevention by CLA: a role for prostaglandins." PROC. ANNU. MEET. AM. ASSOC. CANCER RES., vol. 34, 1993, page A3315 XP002056187	
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubt on priority (claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
18 February 1998	12/03/1998	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5810 Patenttaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Fax: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Klaver, T	

フロントページの続き

(81)指定国 E P (AT, BE, CH, DE,
 DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L
 U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF
 , CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE,
 SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, S
 D, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG
 , KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT
 , AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA,
 CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, F
 I, GB, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP
 , KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,
 LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, M
 W, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD
 , SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
 TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZW

(72)発明者 キム, ソヒー

大韓民国 プサン スーグ ドンダエシン
 2 ガ 313 511 7 ドン サミツク
 エー, ピー, テイー.

(72)発明者 パリザ, ミカエル ダブリュー.

アメリカ合衆国 53719 ウイスコンシン
 マデイソン バルハラ トレイル 7102

(72)発明者 テボニー, ダニエラ

アメリカ合衆国 53717-1179 ウイスコ
 ンシン マデイソン ポンウッド サーク
 ル 69

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

FADED TEXT OR DRAWING

BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

SKEWED/SLANTED IMAGES

COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

GRAY SCALE DOCUMENTS

LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)